



TITLE:

# Studies on applications of Clostridium species for biorefinery( Digest\_要約)

AUTHOR(S):

Sakuragi, Hiroshi

---

CITATION:

Sakuragi, Hiroshi. Studies on applications of Clostridium species for biorefinery. 京都大学, 2014, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2014-03-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18332>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により全文は  
2014/12/01に公開

Studies on applications of *Clostridium* species for biorefinery  
(バイオリファイナリーに向けた *Clostridium* 属の応用に関する研究)

生体高分子化学分野 櫻木 大志

現在の社会において化石燃料は、将来的に枯渇するという問題や大量消費による地球温暖化が懸念されている。今後、化石燃料やから作られる製品に頼る消費社会から、環境負荷の少ない循環型社会へと社会構造を変えていく必要がある。この問題の解決に貢献する新たな資源として植物バイオマスを原料としたバイオリファイナリーによる物質生産が注目を浴びている。

本研究では、バイオリファイナリーへの応用が期待されている嫌気性の微生物 *Clostridium* 属に注目した。*Clostridium cellulovorans* は、アメリカエネルギー庁(DOE) *Clostridium* プロジェクトの中でも、当研究室で全ゲノム解読とその特許化に成功した微生物である。しかも、植物バイオマス分解において、最も進化していると見なされている。セルロースやヘミセルロースを分解する様々な酵素と、巨大な足場タンパク質からなるタンパク質超複合体セルロソームを作り、バイオマスを完全に分解し、利用できる。しかし、*C. cellulovorans* は生理学的に知られていないことも多いため、有用な微生物として用いていくにあたり未解明な特徴を解明しておく必要がある。その一つとして、 $^{13}\text{C}$  安定同位体を用いたターゲットメタボローム解析を用いて  $\text{CO}_2$  固定の代謝経路を解析した(図 1)。また、当研究室により明らかにしたゲノム情報を用いて、*C. cellulovorans* の遺伝子を酵母に発現させて、これまで難関であったヘミセルロースの一種であるキシロースからのエタノール生産を行った(図 2)。

エタノールよりも燃料として優れている次世代バイオ燃料 1-ブタノールの酵母による生産も試みた。*Clostridium acetobutylicum* は元来アセトン、1-ブタノール、エタノールを生産する ABE 発酵経路を有しているため、この発酵経路からブタノール生産だけに特化できる必要な遺伝子群を単離して、酵母に組み込み、バイオブタノールの生産に応用した(図 3)。

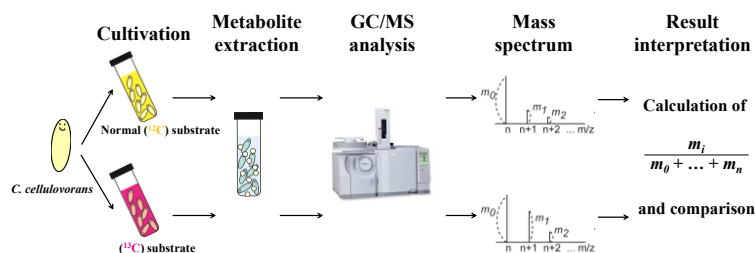


図 1 *C. cellulovorans* の代謝解析の Workflow

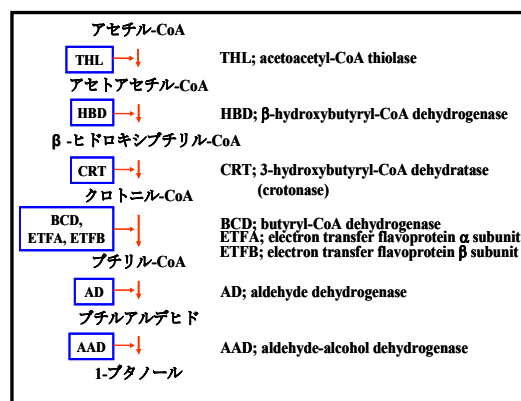


図 3 酵母に導入した 1-ブタノール生産経路

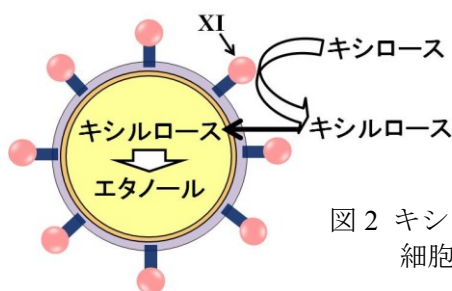


図 2 キシロースイソメラーゼ(XI)を細胞表層に提示した酵母

以上の結果をまとめると以下の通りである。

- $^{13}\text{C}$  安定同位体を用いたターゲットメタボローム解析により、初めて *C. cellulovorans* の  $\text{CO}_2$  固定経路の存在を明らかにできた。
- C. cellulovorans* 由来のキシロースイソメラーゼ(XI)を細胞壁に提示した酵母を作製に成功した。XIに加えて *S. cerevisiae* 由来のキシロキナーゼ(XK)を強化した酵母により、これまで課題となっていたキシロースを唯一の炭素源とする培地からのエタノール生産が初めて成功した。
- C. acetobutylicum* の持つ 1-ブタノール生産経路を有機溶媒耐性に優れる酵母に導入して、次世代燃料として考えられている 1-ブタノールを生産の試みに成功した。